



**Universidad
Zaragoza**

Trabajo de Fin de Máster

Producción y caracterización de biodiésel mejorado
con aditivos de origen renovable

Production and characterization of biodiesel
enhanced with renewable source additives

Autora

Belén Pañeda Suárez

Directores

José Luis Sánchez Cebrián

Francisco Jesús Salafranca Lázaro

Escuela de Ingeniería y Arquitectura

2020



instituto
de investigación
en ingeniería de Aragón

Índice

1.	Resumen	1
2.	Introducción.....	1
2.1.	Biodiésel	2
2.1.1.	Oxidación del biodiésel	4
2.1.2.	Aditivos antioxidantes para el biodiésel.....	6
2.2.	Lignina	7
2.2.1.	Despolimerización de la lignina	10
2.2.2.	Métodos de caracterización de la lignina	11
3.	Objetivos.....	12
4.	Materiales y métodos.....	13
4.1.	Producción del biodiésel	13
4.2.	Producción del aditivo	13
4.3.	Adición del aditivo obtenido al biodiésel	14
4.4.	Métodos de análisis.....	15
4.4.1.	Medidas de solubilidad.....	15
4.4.2.	Medidas de absorbancia. Curva de calibrado	15
4.4.3.	Espectroscopía IR	16
5.	Resultados y discusión	17
5.1.	Métodos de análisis.....	17
5.1.1.	Medidas de solubilidad.....	17
5.1.2.	Medidas de absorbancia. Curva de calibrado	17
5.1.3.	Espectroscopía IR	19
6.	Conclusiones.....	21
7.	Trabajos futuros.....	21
8.	Referencias bibliográficas	23

1. Resumen

El presente Trabajo de Fin de Máster (TFM) se ha llevado a cabo en el Grupo de Procesos Termoquímicos, perteneciente al Instituto Universitario de Investigación en Ingeniería de Aragón (I3A) de la Universidad de Zaragoza. Este trabajo se ha centrado en la obtención de aditivos para inhibir la oxidación del biodiésel obtenidos a partir de la lejía negra, la cual contiene un alto contenido en lignina.

A lo largo de diferentes estudios se ha comprobado que los compuestos fenólicos proporcionan excelentes propiedades antioxidantes, por lo que sirven para mejorar la estabilidad frente a la oxidación del biodiésel. Por lo tanto, uno de los objetivos del presente trabajo es la despolimerización de la lignina para obtener determinados compuestos que ofrezcan estos resultados, sometiendo a la lejía negra a un proceso hidrotermal a 300 °C durante 1 hora en un reactor autoclave.

Una vez aditivado el biodiésel al 1% en peso, se intentó obtener información sobre los compuestos que dan las propiedades antioxidantes al biodiésel. En primer lugar, se analizó por espectrofotometría de absorción Vis-UV con el fin de calcular la solubilidad del aditivo. Por otro lado, se hicieron medidas por espectrometría IR para poder obtener alguna información estructural. Todas las técnicas que se han utilizado se encuentran disponibles en el laboratorio del Grupo de Procesos Termoquímicos.

2. Introducción

En la última década, el estudio y sustitución de los combustibles fósiles por biocombustibles está cobrando más interés, debido, en su mayoría, al uso abusivo que se está haciendo de estos combustibles fósiles. Esto acarrea problemas de distinta índole, asociados tanto al ámbito medioambiental como a temas político-sociales. Uno de los principales es la emisión de gran cantidad de dióxido de carbono, un gas que es partícipe del llamado efecto invernadero, teniendo como consecuencia el calentamiento global que produce un aumento en la temperatura media del planeta.¹ Otro factor medioambiental a tener en cuenta es la lluvia ácida, es decir, al entrar en combustión estos combustibles generan óxidos de azufre y nitrógeno que pasan a la atmósfera en forma de ácidos de tal modo que, cuando hay precipitaciones, la disminución de pH tiene consecuencias irreparables.

Para intentar remediar estos problemas, hoy en día existe una gran cantidad de líneas de investigación con los llamados biocombustibles. Se trata de combustibles alternativos obtenidos a partir de materias primas de origen renovable, que pueden encontrarse en forma sólida, como paja, leña o astillas, en estado líquido, tales como aceites, o en estado gaseoso, como el gas que procede de la digestión anaeróbica.² Uno de los más destacados en este contexto es el biodiésel, cuyas características no difieren en gran medida con las del diésel convencional derivado del petróleo. El biodiésel puede emplearse en motores de ignición mezclándolo en diferentes proporciones con diésel o, directamente, sin ningún tipo de mezcla. Por otra parte, las actuales políticas de la Unión Europea fomentan el uso de biocombustibles. La Directiva (UE) 2015/1513 establece que los estados miembros deben de destinar al menos un 7% del combustible a biocombustibles para 2020.³ Además, se requiere la transición hacia biocarburantes producidos a partir de materias primas tales como aceites de cocina usados o grasas animales, con el objetivo de no competir con la producción de alimentos.

2.1. Biodiésel

El biodiésel es uno de los biocombustibles más producidos y vendidos a nivel mundial⁴, siendo la Unión Europea el principal productor, con $1,17 \cdot 10^7$ toneladas producidas en 2018, aproximadamente el 35% del total mundial cifrado en $3,33 \cdot 10^7$ toneladas. Esto viene reflejado en la Figura 1, donde aparece la evolución de la producción mundial del biodiésel, apreciándose un ligero aumento desde 2011.

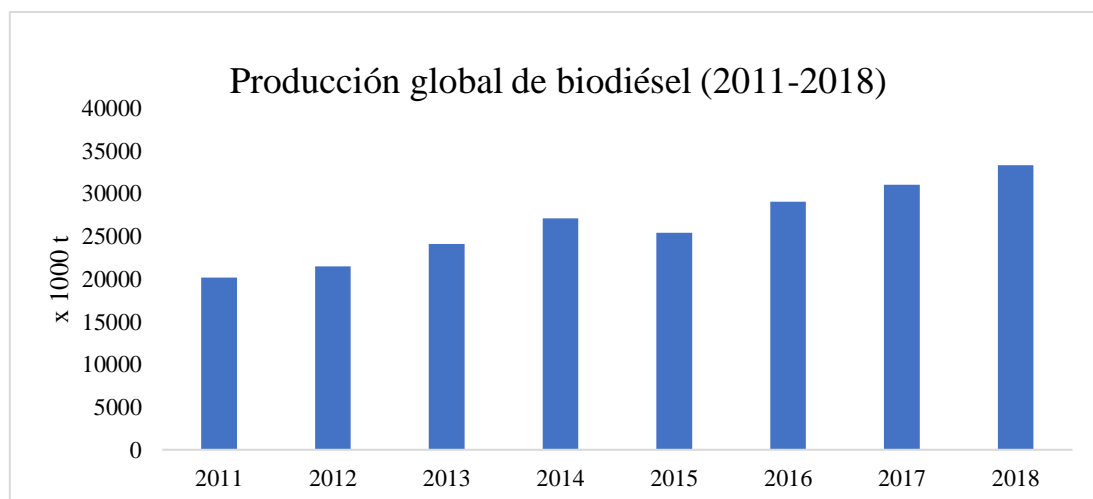


Figura 1: Evolución de la producción mundial del biodiésel desde 2011 a 2018⁵

Dentro de la Unión Europea, el país que produce mayor cantidad de biodiésel es Alemania, seguido de Países Bajos, mientras que en América, es EEUU seguido de Brasil y Argentina.⁵

El biodiésel se genera a partir de triglicéridos provenientes de aceites vegetales principalmente, como el de colza o soja, por medio de una reacción de transesterificación con un alcohol de cadena corta en la que se obtiene glicerina como subproducto. El proceso consta de 3 reacciones reversibles consecutivas formando inicialmente el diglicérido y posteriormente monoglicérido como productos intermedios.⁶ En la Figura 2 se muestra el proceso global de la producción de biodiésel a partir de un aceite haciéndolo reaccionar con un alcohol en presencia de un catalizador.

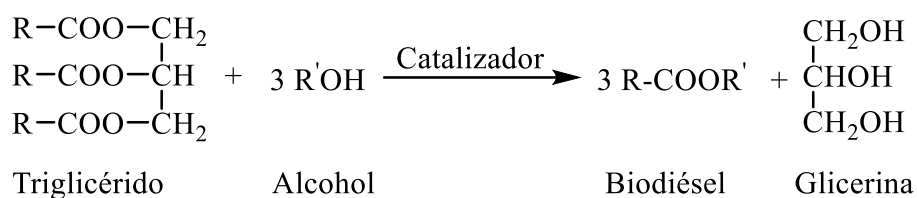


Figura 2: Esquema de la reacción general de obtención de biodiésel, donde R y R' representan cadenas alifáticas

El catalizador empleado, tanto homogéneo como heterogéneo, puede ser ácido, básico o enzimático.^{7,8} Generalmente se emplea como catalizador NaOH o KOH, dando lugar a reacciones más rápidas que requieren bajas temperaturas. Una de las problemáticas que puede aparecer en este tipo de reacciones es la presencia de agua, ya que aumenta la probabilidad de que ocurra la reacción de saponificación produciendo jabones, consumiendo, total o parcialmente, la base empleada como catalizador. Esto aparece explicado de manera más detallada en el Anexo I.1.

Finalmente, se obtiene una mezcla de glicerina y ésteres. La glicerina, obtenida como subproducto, se puede emplear en diferentes procesos mejorando así la economía global del proceso. Puede utilizarse, entre otros, como plastificante en adhesivos, para la fabricación de explosivos⁹, para la síntesis de mono y diglicéridos o como aditivos oxigenados en combustibles, línea de investigación que aún está en desarrollo.¹⁰

El biodiésel tiene gran cantidad de ventajas frente a otros combustibles en relación con el medioambiente, entre otras, que procede de recursos renovables y es biodegradable, disminuye las emisiones de dióxido de carbono y tiene un mayor efecto lubricante. Además, no presenta en su composición átomos de azufre, por lo que no se forma SO₂,

que es uno de los causantes de la lluvia ácida. El uso de biodiésel también presenta algunas desventajas frente al diésel derivado del petróleo, como es la temperatura de congelación más elevada, lo que limita su uso en climas fríos o la mayor producción de NO_x en la combustión en los motores. Los compuestos saturados presentes en el biodiésel son los responsables de las propiedades de flujo en frío. En este sentido, es deseable una cadena que posea un alto grado de insaturaciones, teniendo una estructura más rígida por la menor movilidad de estos enlaces y por ello un mal plegamiento al disminuir la temperatura. Como contrapartida, la presencia de dobles enlaces a lo largo de la cadena, hace al biodiésel susceptible de ser oxidado, por lo que tiene una baja estabilidad frente a la oxidación.¹¹ En consecuencia, el biodiésel puede oxidarse con relativa facilidad en contacto con el aire, lo que supone una desventaja a la hora de almacenarlo durante largos periodos de tiempo. Ambas propiedades dependen en gran medida de la materia prima y la composición de los ácidos grasos de partida. Para mejorar las propiedades del biodiésel a bajas temperaturas, se debe aumentar el grado de insaturaciones en la cadena, pero como contrapartida, se aumenta la tendencia a la oxidación, disminuyendo su estabilidad y provocando como resultado final la formación de gomas, depósitos y sedimentos, perdiendo las características que lo definían como combustible.

En resumen, el biodiésel con buenas propiedades frente a flujos en frío tiene una baja estabilidad frente a la oxidación y viceversa. En el Anexo I.2. aparece de manera más detallada las propiedades de biodiésel procedentes de diferentes materias primas.

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, cabe suponer que, para satisfacer ambas propiedades, será necesario encontrar un balance óptimo entre ésteres de ácidos grasos saturados e insaturados. Centrándose en los objetivos fijados, y debido a la extensión que supone, a lo largo del presente trabajo se hará un enfoque más detallado en la oxidación del biodiésel, sin entrar en sus propiedades frente a bajas temperaturas.

2.1.1. Oxidación del biodiésel

Además de la presencia de enlaces insaturados en el biodiésel, hay otros factores que afectan a la oxidación, como son la temperatura, contenido de trazas de metales, la luz o la presencia de oxígeno. La oxidación del biodiésel produce la formación de hidroperóxidos, pudiendo generar una especie de goma que provoca el taponamiento de los filtros además de aumentar la viscosidad del combustible.³

Hay que considerar dos tipos de oxidación: la autooxidación y la fotooxidación. La primera es la más común para el caso del biodiésel y tiene lugar en presencia de oxígeno, mientras que la segunda tiene lugar bajo la presencia de luz y oxígeno.¹² De forma resumida, el mecanismo de la autooxidación (oxidación química) consiste en la formación de radicales peróxido y posteriormente la formación de hidroperóxidos que son transformados en compuestos de cadena más corta, como cetonas, aldehídos, alcoholes o ácidos de bajo peso molecular. La reactividad de los dobles enlaces de los ésteres metílicos, derivados de los ácidos grasos, está relacionada con las posiciones alílicas, que son más reactivas. Un ácido graso con mayor número de posiciones alílicas será más inestable frente a la oxidación. En este sentido, un ácido graso conjugado es más estable debido a que la deslocalización de los electrones proporciona una estabilización parcial a la molécula.¹³

La oxidación química ocurre en dos etapas: la oxidación primaria y la secundaria. En la oxidación primaria hay una fase de iniciación, otra de propagación y una de terminación. En la de iniciación un radical, que actúa como iniciador, ataca a un hidrógeno del éster metílico formando un radical a base de carbono que es muy reactivo. En la etapa de propagación, este radical reacciona rápidamente con una molécula de oxígeno formando un radical peróxido (ROO·). Aunque este radical no es tan reactivo como el formado en la iniciación (R·), puede arrancar un hidrógeno de la molécula del éster metílico (biodiésel) y generar de nuevo un radical (R·) e hidroperóxido. El radical formado continúa el ciclo de propagación. Por último, tiene lugar la etapa de terminación, que ocurre cuando dos radicales reaccionan entre sí para dar lugar a un producto estable.¹⁴ Esto puede verse en las reacciones que aparecen en la Figura 3.

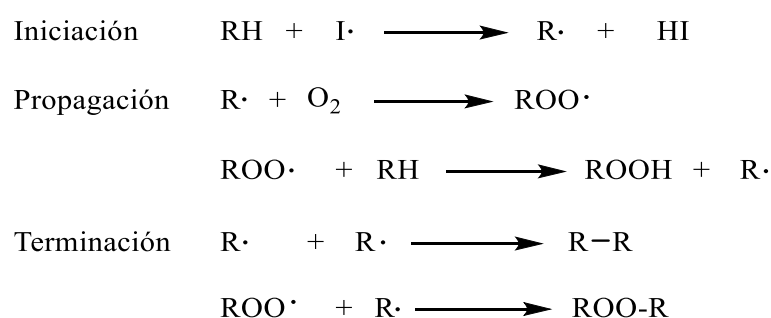


Figura 3: Mecanismo de la oxidación primaria del biodiésel

En la oxidación secundaria, que también se conoce con el nombre de polimerización vinílica, el hidroperóxido formado en la oxidación primaria (ROOH) se descompone para

formar compuestos de cadena más corta, tales como aldehídos, alcoholes alifáticos, ácido fórmico y formiatos, afectando a las características del biodiésel.

Tanto la oxidación primaria como la secundaria continúan produciéndose hasta que todos los sitios reactivos se agoten.

Por lo tanto, teniendo en cuenta la serie de inconvenientes que presenta el biodiésel para emplearlo como combustible resulta necesario emplear aditivos que actúen como antioxidantes, para poder almacenar el biodiésel durante largos periodos de tiempo sin que se formen sedimentos que puedan estropear los filtros de los vehículos. Mediante el empleo de estos aditivos se asegura que el biodiésel cumpla con los requisitos de calidad para su comercialización recogidos en la normativa UNE-EN 14214:2013 V2+A1:2018 para la Unión Europea y por la ASTM (American Society for Testing and Materials) D6751-20. En el Anexo I.3 se muestran los valores de las propiedades del biodiésel requeridos por la normativa europea para que pueda ser empleado como combustible.

2.1.2. Aditivos antioxidantes para el biodiésel

Los aditivos empleados en el biodiésel son compuestos sintéticos que derivan de materiales no renovables, que además tienen un elevado coste. Por ello, resulta novedoso plantear la búsqueda de alternativas a estos compuestos, empleando compuestos más baratos derivados de la biomasa y residuos.

Existen dos tipos de antioxidantes: los primarios y los secundarios. Los antioxidantes primarios, habitualmente compuestos fenólicos o aminas, interrumpen la reacción en cadena. Los oxidantes secundarios descomponen las moléculas de hidroperóxidos, aunque no se tiene conocimiento acerca del mecanismo involucrado.¹⁵ A partir de aquí, los antioxidantes mencionados se tratarán como antioxidantes primarios. En la Figura 4 se muestra el esquema del mecanismo de interrupción de la cadena de oxidación.

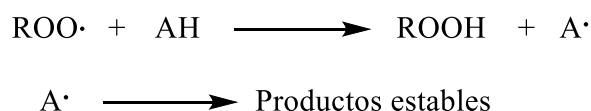


Figura 4: Mecanismo de interrupción de la cadena de oxidación, donde AH es el antioxidante que puede ser un compuesto fenólico o una amina

Como se observa en la Figura 4, el antioxidante AH contiene un hidrógeno lábil, lo que significa que es susceptible de ser atacado por el radical peróxido formado en la etapa de propagación de la oxidación del biodiésel. El resultado es un radical libre que se mantiene

estable o reacciona para formar otros productos estables más resistentes a los procesos de oxidación.¹⁶ En el Anexo I.4. se presenta un ejemplo de este mecanismo empleando un antioxidante comercial.

En consecuencia, el mecanismo de interrupción de la cadena evita que los radicales peróxido ataquen a un carbono de la cadena de ácidos grasos del biodiésel. En otras palabras, los antioxidantes no evitan que la oxidación del biodiésel tenga lugar, pero reducen significativamente la velocidad a la que ocurre.

Ejemplos de aditivos empleados como antioxidantes son: butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), N,N'-difenil-1,4-fenilendiamina (DPPD), N-fenil-1,4-fenilendiamina (NPPD) o terbutilhidroquinona (TBHQ)¹¹, cuyas estructuras se muestran en la Figura 5. Diferentes compuestos empleados como aditivos sintéticos se encuentran en el Anexo I.5.

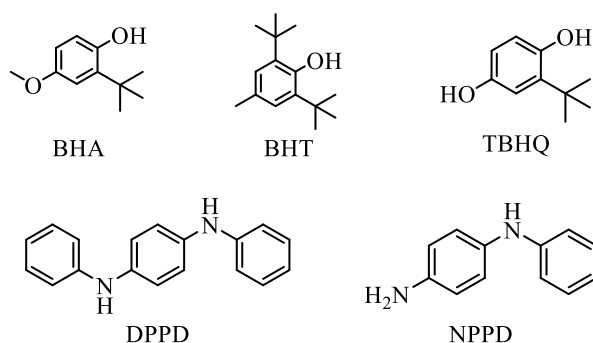


Figura 5: Mecanismo de interrupción de la cadena de oxidación, donde AH es el antioxidante que puede ser un compuesto fenólico o una amina

Como se ha explicado anteriormente, los fenoles poseen una actividad antioxidante muy efectiva para el biodiésel. Cabe destacar que existen numerosos compuestos fenólicos naturales, lo que supone una vía de investigación para poder emplearlos como aditivos y sustituir a los sintéticos, aportando al proceso un plus en cuanto a "renovable".

Uno de los polímeros más abundantes en la naturaleza es la lignina, cuya estructura está formada por compuestos fenólicos, por lo que cabe suponer, que este compuesto puede ser una opción atractiva para la obtención de antioxidantes.

2.2.Lignina

La biomasa se puede obtener a partir de pastos, residuos forestales, árboles, cultivos y plantas acuáticas. Dentro de la biomasa se encuentra la biomasa lignocelulósica, constituida por la celulosa, lignina, hemicelulosa y azúcares libres. Por tanto, con un

tratamiento adecuado a la biomasa lignocelulósica es posible obtener diferentes productos de valor. En el Anexo II.1 se muestra un ejemplo de una biorrefinería en la que, a partir de biomasa y por diferentes tratamientos, se pueden obtener diferentes productos de alto valor, entre los que se encuentra la lignina.¹⁷

Por ende, la lignina constituye parte de la biomasa, siendo uno de los biopolímeros más abundantes en la naturaleza de gran resistencia a la degradación química y biológica.¹ Junto con la celulosa y la hemicelulosa forma parte de la pared celular de las plantas, aunque la composición y proporción de estos tres compuestos varía dependiendo del tipo de planta que se trate.

La estructura de la lignina está formada por compuestos aromáticos, siendo esta la materia prima más importante de origen renovable en producirlos, aunque para ello, se necesitan procesos complejos. La producción mundial de lignina, principalmente de la industria papeleras, se estima que es de aproximadamente $50 \cdot 10^6$ t/año, similar a la producción de los plásticos.¹⁸ La mayoría de la lignina se obtiene como subproducto de la producción de pasta de papel y, sus características y propiedades, dependerán del método aplicado para extraer la celulosa.

La lignina puede ser de origen nativo o de origen técnico. Si se trata de origen nativo, no se encuentra aislada en la naturaleza, sino que aparece asociada a materia lignocelulósica, mientras que la técnica es un subproducto proveniente de la industria. La composición y el peso molecular de estas ligninas dependen de la fuente de la que provengan y del método de extracción aplicado.¹⁹

Deriva principalmente de tres unidades de fenilpropano-monoméricas, los monolignoles, que aparecen representados en la Figura 6. Estos son los principales precursores en la lignina polimerizando entre ellos para formar la estructura del biopolímero.

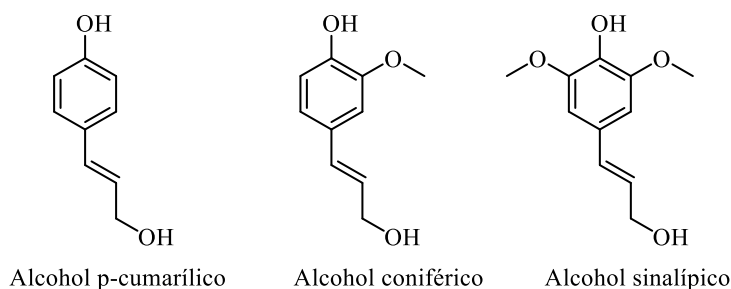


Figura 6: Estructuras de los alcoholes precursores en la estructura de la lignina

Los porcentajes de estos monolignoles dependen del tipo de planta. Estos precursores pueden ser interesantes para emplearlos como reactivos de partida en la producción de compuestos aromáticos en la industria petroquímica, solucionando de cierta manera el uso de las reservas de petróleo aprovechando el uso de fuentes alternativas.¹⁸

La estructura de la lignina no está claramente definida debido a su complejidad, que afecta al análisis de su composición y la caracterización estructural. En la Figura 7 se representa una estructura propuesta para la lignina,¹⁸ en la que aparecen múltiples unidades estructurales que no se suelen repetir de forma regular.

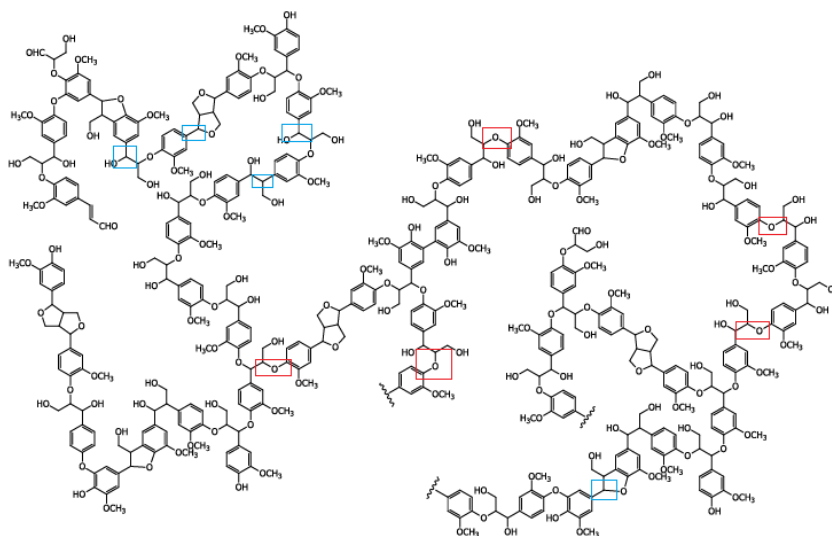


Figura 7: Modelo estructural de la lignina.¹⁸ (en azul aparecen señalados algunos enlaces condensados, y en rojo enlaces éter)

Teniendo en cuenta la estructura de la lignina resulta difícil estimar la cantidad de enlaces que están presentes. De modo general, aparecen dos tipos de enlaces que mantienen unidos a los monómeros en la estructura polimérica: los enlaces éter, que son habitualmente más abundantes, y los enlaces carbono-carbono, que también reciben el nombre de enlaces condensados. El problema es que resulta muy difícil conocer las proporciones exactas de cada enlace, ya que son diferentes dependiendo de la fuente de lignina. En el Anexo II.2 aparecen los enlaces más típicos en la estructura polimérica de la lignina, siendo en enlace β -aril éter (β -O-4) el más abundante en las ligninas.

Diferentes estudios tratan de cerca la ruptura de los enlaces de la lignina por diferentes técnicas, como la pirólisis, gasificación, oxidación, tratamiento hidrotermal o despolimerización empleando líquidos iónicos,²⁰ entre otros, para así obtener productos

útiles. En el Anexo II.3. se mencionan las diferentes aplicaciones de la lignina en diferentes campos de estudio.

2.2.1. Despolimerización de la lignina

La lignina puede proceder de distintos tipos de fuentes, pudiéndose aislar diversos tipos, aunque existe el riesgo de modificarlas estructuralmente durante el proceso,²¹ siendo las principales las ligninas tipo sulfito, Kraft y soda. En el Anexo II.4 aparece una clasificación de los diferentes tipos de lignina según el proceso aplicado.

Para la obtención de compuestos, las ligninas, principalmente, provienen de subproductos de la industria papelera. Se estima que solamente el 2% de lignina (mayoritariamente tipo sulfito y Kraft) se emplea para estos procesos, mientras que el resto es quemada para producir energía.¹⁸ En la Figura 8 aparece un esquema de los procesos a los que se pueden someter a la lignina, independientemente de la fuente de la que provengan.

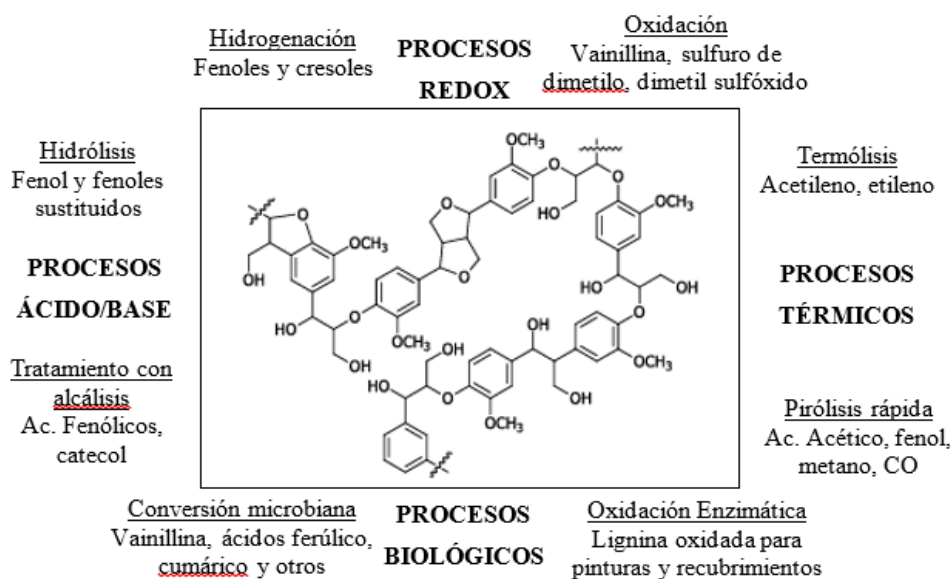


Figura 8: Esquema de diferentes procesos aplicados a la lignina¹⁸

Como puede comprobarse, con la técnica de despolimerización adecuada, se podría conseguir, teóricamente, los productos de alto valor deseados. La despolimerización de la lignina, entonces, tiene como objetivo producir productos químicos aromáticos, principalmente fenoles, de manera sostenible. Una vez obtenidos estos productos, se deben emplear las técnicas adecuadas para poder caracterizarlos. Esto es uno de los principales objetivos del trabajo, que se exponen en el siguiente apartado.

2.2.2. Métodos de caracterización de la lignina

El análisis de los substratos lignocelulósicos implica la determinación de su composición química, además de la separación y purificación de los distintos compuestos. Debido a la complejidad de la estructura de la lignina no hay un método universal para determinar su contenido. Este apartado se centrará en los métodos instrumentales empleados para la caracterización de la lignina. Para conocer qué métodos existen para cuantificar el contenido de lignina, así como la relación que existe en la lignina de las unidades de guaiacilo, siringilo y p-hidroxifenilo, se debe consultar el Anexo II.5

Los análisis instrumentales son métodos modernos, rápidos y, en su mayoría, no destructivos cuyo objetivo está en el estudio de las propiedades químicas y físicas de la lignina. Mediante estos análisis se obtiene información estructural de la muestra, en la que se necesitan pequeñas cantidades de ella y, en algunos casos, una modificación química previa de la muestra.²²

La espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) es una técnica no destructiva, que aporta información estructural de la lignina y ayuda a identificar discrepancias en la lignina aislada por diferentes métodos.²³ Se hace un barrido en la región de IR medio ($4000\text{-}200\text{ cm}^{-1}$) para el estudio de los compuestos orgánicos. La principal característica del espectro IR obtenido de la lignina son bandas anchas entre $3500\text{ y }3100\text{ cm}^{-1}$, que corresponden a las vibraciones -OH de los grupos hidroxilo alifáticos y fenólicos. Las reacciones de metilación y acetilación en los grupos hidroxilo provocan la reducción de la intensidad de las bandas, debido al reemplazo del átomo de hidrógeno por -CH_3 y -OCOCH_3 . Otras bandas características de la lignina se encuentran en el rango $1760\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$, por el estiramiento del grupo carbonilo (C=O). Aparecen tres bandas correspondientes a las vibraciones de los anillos aromáticos del fenilpropano que se encuentran aproximadamente a 1600 , 1510 y 1425 cm^{-1} .²²

La cromatografía de permeación en gel (GPC) se emplea para determinar el peso molecular promedio en número (M_n), el peso molecular promedio en peso (M_w) y la polidispersidad (M_w/M_n) de cualquier polímero. Las muestras de lignina se acetilan para mejorar su solubilidad en tetrahidrofurano (THF), que se emplea generalmente como fase móvil. Las impurezas presentes, como precipitados inorgánicos, se deben eliminar antes del análisis para que no afecten a los cálculos realizados. La GPC con espectroscopía de masas de tiempo de vuelo/ionización por desorción láser asistida por matriz (MALDI-TOF-MS), es otra técnica analítica utilizada para la estimación del peso molecular de la

lignina.²⁴ Normalmente, el peso molecular de la lignina oscila entre 1000 y 20000 g·mol⁻¹, ya que se fragmenta durante el proceso de extracción.

Los análisis térmicos son métodos analíticos que se utilizan para estudiar propiedades de los materiales con el cambio de temperatura. El análisis termogravimétrico (TGA) y la calorimetría diferencial de barrido (DSC), son los métodos más utilizados para caracterizar la lignina. Las curvas TGA muestran la pérdida de peso en relación a la degradación térmica. La primera derivada de esta curva, denominada análisis termogravimétrico derivado (DTG), proporciona información sobre la conversión termoquímica de la muestra. El calentamiento habitual para este tipo de muestras es de 25 a 800 °C, con una velocidad de calentamiento de 10-20 °C·min⁻¹ bajo atmósfera inerte. La DSC se emplea para determinar la temperatura de fusión, la entalpía y las temperaturas de transición vítrea (Tg), que son parámetros importantes para los materiales poliméricos.

Por último, la resonancia magnética nuclear (RMN) es un método que proporciona información cualitativa y cuantitativa sobre la estructura química de las muestras de lignina acetilada. El disolvente más utilizado es DMSO-d₆. La información sobre los diferentes protones que se encuentran en la estructura química de la lignina se puede obtener mediante espectrometría de ¹H-RMN. Además, ¹H-RMN junto con ¹³C-RMN y ³¹P-RMN pueden proporcionar información valiosa sobre el tipo, la concentración y la abundancia relativa de los diferentes enlaces químicos que se encuentran en las muestras de lignina.²⁵

3. Objetivos

Los objetivos del presente TFM, “*Producción y caracterización de biodiésel mejorado con aditivos de origen renovable*”, son los siguientes:

- Utilización de las fracciones de lignina, obtenidas por despolimerización de la lejía negra (Black Liquor Solid; BLS), como aditivos para el biodiésel
- Estudio de la incorporación de estos aditivos al biodiésel: medida de la solubilidad y de la absorbancia mediante espectrometría visible-UV
- Análisis y caracterización de los productos resultantes de la despolimerización del BLS por medio de espectroscopía infrarroja FTIR tanto por transmisión, como con el accesorio para ATR (reflexión total atenuada)

- Comparación de las técnicas FTIR y FTIR-ATR para ver cuál ofrece unos mejores resultados en función del estado físico de la muestra a analizar

4. Materiales y métodos

4.1. Producción del biodiésel

Las condiciones de reacción para la producción del biodiésel, así como el procedimiento experimental, se detallan en el Anexo III.1 ya que esto no ha sido objeto de estudio en el presente TFM.

4.2. Producción del aditivo

En primer lugar, se produce la lejía negra seca o BLS (rica en lignina) a partir de paja de cebada; procedente de Sabiñánigo, Huesca; mediante un proceso tipo soda. Como la producción en sí no es objetivo del presente trabajo además de haberse llevado a cabo antes de la realización del trabajo experimental, se puede consultar el Anexo III.2 donde aparece una breve explicación del proceso.

Para la obtención de aditivos antioxidantes para el biodiésel, se somete al BLS a un tratamiento hidrotermal. Para cada experimento se parte de 400 g de una disolución al 7% en peso de BLS en agua destilada. Se debe tener en cuenta que se trata de un sólido higroscópico, por lo que se debe secar en la estufa a 105 °C y conservar hasta el momento de la pesada en un desecador a temperatura ambiente.

Se emplea un reactor autoclave agitado (Parr, modelo 4575) de 500 mL de volumen, a 300 °C durante 1 hora, fijando una rampa de temperatura a 5°C·min⁻¹ hasta alcanzar la temperatura deseada. Cuando se introduce la disolución en el reactor se hacen 3 ciclos de vacío y se purga con N₂ para minimizar la presencia de oxígeno en el reactor.

Una vez terminado el tiempo de reacción (1 hora), se para el reactor y se deja enfriar la mezcla hasta temperatura ambiente. En el interior del reactor quedan una fase líquida y otra sólida, que se recolectan en un vaso de precipitados. Se lava el interior del reactor con MeOH para arrastrar el sólido adherido por las paredes, juntándose con la fase líquida y sólida generada. La mezcla finalmente obtenida se separa por filtración y, posteriormente, la fase líquida se lleva a un embudo de decantación, empleando como agente extractor AcOIPr. Tras la extracción, la fase orgánica se lleva al rotavapor y posteriormente esta fracción es la que se emplea para adicionar al biodiésel.²⁰ El proceso completo está representado en la Figura 9 de manera esquemática.

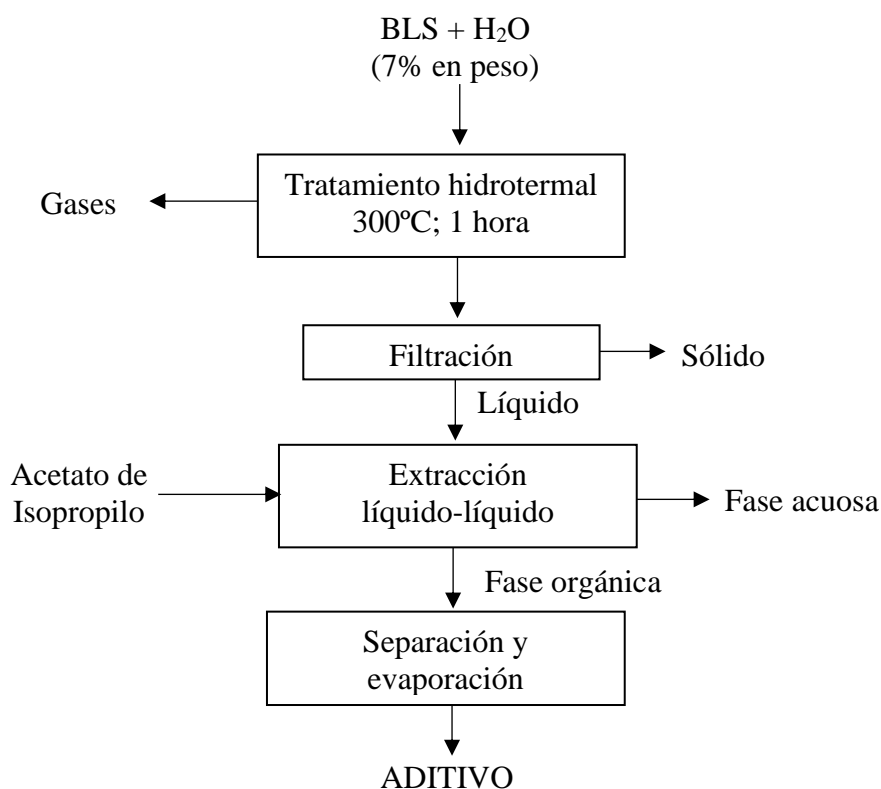


Figura 9: Esquema del procedimiento de la obtención del aditivo para el biodiésel a partir de BLS

4.3. Adición del aditivo obtenido al biodiésel

Una vez obtenido el aditivo, del cual se ha comprobado en trabajos anteriores^{20,26,27} la capacidad antioxidante, se añade el biodiésel en la cantidad adecuada hasta conseguir un 1% en peso en el aditivo y se lleva a un baño de ultrasonidos para favorecer la mezcla. La norma UNE-EN 14214: 2013 V2+A1:2018 establece que el contenido de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) debe ser al menos de un 96,5 %, por tanto, en el presente TFM, se adicionó un 1% de producto como posible aditivo para respetar dicha normativa. Basándose en la experiencia de trabajos anteriores²⁰, se añade MeOH en la misma cantidad que biodiésel, actuando como cosolvente para mejorar la disolución de los aditivos derivados de la lignina en el biodiésel.²⁰ Se lleva al baño de ultrasonidos de nuevo y, por último, al rotavapor para eliminar el MeOH, verificando su eliminación por completo mediante diferencia de pesadas.

Como resultado final, se obtiene el biodiésel aditivado al 1% en peso, en el que una parte de los compuestos de la lignina despolimerizada no son solubles a esta concentración. Con el objetivo de conocer qué compuestos son los que dan las propiedades antioxidantes al biodiésel, resulta necesaria la filtración para poder emplear diferentes técnicas de

análisis y obtener información estructural. En primer lugar, se plantea el análisis de la mezcla por espectrofotometría de absorción molecular Vis-UV para ver si el color de la mezcla se relaciona con la concentración del aditivo y medidas por espectrometría IR para ver si se puede obtener información estructural o conocer algún grupo funcional con las bandas de los espectros obtenidos.

4.4. Métodos de análisis

4.4.1. Medidas de solubilidad

Una parte del aditivo se solubiliza de forma homogénea en el biodiésel, mientras que otra fracción queda sin solubilizar. Para conocer qué cantidad de compuestos se incorpora de forma efectiva, se realizan medidas de solubilidad empleando filtros de jeringa (tamaño del poro: 0,45 μm), que previamente han sido guardados en el desecador. Para llevar a cabo las medidas de solubilidad, se emplea una balanza con una precisión de 5 cifras decimales (Mettler Toledo XS105 DualRange). De forma resumida, el procedimiento se presenta en la Figura 10.



Figura 10: Esquema de la medida de solubilidad del aditivo en el biodiésel empleando filtro de jeringa

Este procedimiento se repite con 3 muestras preparadas a partir del mismo experimento de despolimerización para poder evaluar la reproducibilidad del método. Para cada muestra se emplean 5 viales para filtrar. En el Anexo III.3 aparece de manera más detallada el procedimiento llevado a cabo y los cálculos realizados para conocer la solubilidad.

4.4.2. Medidas de absorbancia. Curva de calibrado

Una vez que se tiene preparado el biodiésel aditivado, se procede a hacer medidas de absorbancia, tanto a este, como al aditivo en AcOIPr. Para ello se emplea un espectrofotómetro Vis-UV (Shimadzu 1240 UV mini) y luego se representa la curva de calibrado del aditivo en AcOIPr.

- Medidas de absorbancia del aditivo en AcOIPr

Se prepara una disolución del aditivo obtenido al 2% en peso en AcOIPr. Se hace un barrido entre 350-750 nm para poder seleccionar las longitudes de onda características de la muestra y, así, medir la absorbancia a diferentes concentraciones. A partir de la disolución al 2% se preparan al 1,5%, 1% y 0,5% en peso y se miden las correspondientes absorbancias a las λ seleccionadas, empleando cubetas de cuarzo y se representan las curvas de calibrado.

- Medidas de absorbancia del biodiésel aditivado al 1%

Con las muestras filtradas del biodiésel aditivado al 1% se mide la absorbancia a las longitudes de onda seleccionadas anteriormente para las medidas del aditivo disuelto en AcOIPr y se comparan los resultados de diferentes muestras triplicadas para ver si son reproducibles.

4.4.3. Espectroscopía IR

Se obtienen los espectros de la muestra empleando un espectrómetro infrarrojo (Agilent Cary 670) mediante la transformada de Fourier. Paralelamente, esas mismas muestras se analizan con un equipo que emplea una sonda ATR acoplada a un espectrómetro (Agilent 630 con accesorio ATR). Para conocer cómo se recupera la parte no soluble del aditivo que se encuentra en los filtros, se debe consultar el Anexo III.4.

A la hora de realizar las medidas por FTIR se emplean pastillas de ZnSe como soporte donde se deposita la muestra, y se evaporan los disolventes con el fin de conseguir la muestra seca. En primer lugar, se analizan patrones de AcOIPr y MeOH en pastillas de ZnSe para posteriormente ver si en las muestras hay trazas de disolvente. En el FTIR se analizan las siguientes muestras:

- ✓ Parte soluble del aditivo en AcOIPr
- ✓ Parte no soluble del aditivo en AcOIPr
- ✓ Parte no soluble del aditivo en biodiésel al 1% en peso

Con el empleo de ATR acoplado se miden las mismas muestras para luego comparar los espectros obtenidos con ambas técnicas.

5. Resultados y discusión

5.1. Métodos de análisis

5.1.1. Medidas de solubilidad

Al obtener el biodiésel aditivado se pretende conocer qué porcentaje del aditivo preparado es soluble en biodiésel. Se hicieron medidas de solubilidad por triplicado, para ver si el resultado es reproducible. Para ello se prepararon 3 muestras idénticas: BLS17-BP; BLS17-BP3 y BLS17-BP4, las cuales, provienen del mismo experimento de despolimerización. Siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 4.4.1 se obtuvieron los resultados que aparecen recogidos en la Tabla 1, en el que se representa el % de solubilidad junto con la desviación estándar de cada muestra, así como la media de las tres.

Tabla 1: Solubilidad de la lignina en biodiésel aditivado al 1% a partir del experimento BLS17

Experimento	% real de lignina	% solubilidad
BLS17-BP	0,999	79,3 ± 1,4 %
BLS17-BP3	0,998	80,2 ± 7,9%
BLS17-BP4	0,979	71,3 ± 2,7%
Media	0,992	76,9 ± 4,9 %

5.1.2. Medidas de absorbancia. Curva de calibrado

- Medidas de absorbancia del aditivo en AcOIPr

Cuando se preparó la disolución al 2% en peso del aditivo en AcOIPr, al igual que sucedía con el biodiésel, una parte de los componentes no se disolvieron, por lo que para realizar las medidas de absorbancia de la mezcla se debe filtrar, siguiendo el mismo procedimiento que el descrito en el apartado 4.4.1.

Una vez eliminados los compuestos no solubles de la mezcla a esa concentración, se lleva al rotavapor para eliminar el disolvente y así obtener la fracción sólida soluble del aditivo en AcOIPr y realizar las medidas de absorbancia a diferentes concentraciones. A partir del sólido obtenido se preparan disoluciones a diferentes concentraciones en AcOIPr. Se observó que los compuestos de la lignina despolimerizada que eran solubles en AcOIPr en una concentración del 2% también lo eran a concentraciones inferiores.

Se hizo un primer barrido, entre 200 y 750 nm, seguido de un segundo barrido de 450-600 nm. Diversos estudios señalan que en este rango de longitudes no hay interferencias del biodiésel.^{28,29} Después de realizar ambos barridos no se observaron picos definidos, por lo que no fue posible seleccionar longitudes de onda de dichos espectros. Teniendo en cuenta las longitudes de onda a las que absorbe el biodiésel en esta región y la bibliografía consultada de la lignina, se seleccionan las λ para observar el comportamiento de estos compuestos. Se eligieron 550, 500, 450 y 435 nm para trazar la curva de calibrado de las disoluciones preparadas. En la Figura 11 aparecen representadas estas curvas, observando un comportamiento lineal para las dos longitudes de onda más altas con un coeficiente de determinación (R^2) próximo a la unidad. Se puede decir que a longitudes de onda mayores se dan buenos resultados de absorbancia y una buena sensibilidad, mientras que a longitudes de onda bajas (435, 450 nm) a concentraciones mayores de 1% en peso, aproximadamente, se desvían de la linealidad, por lo que el método pierde sensibilidad.

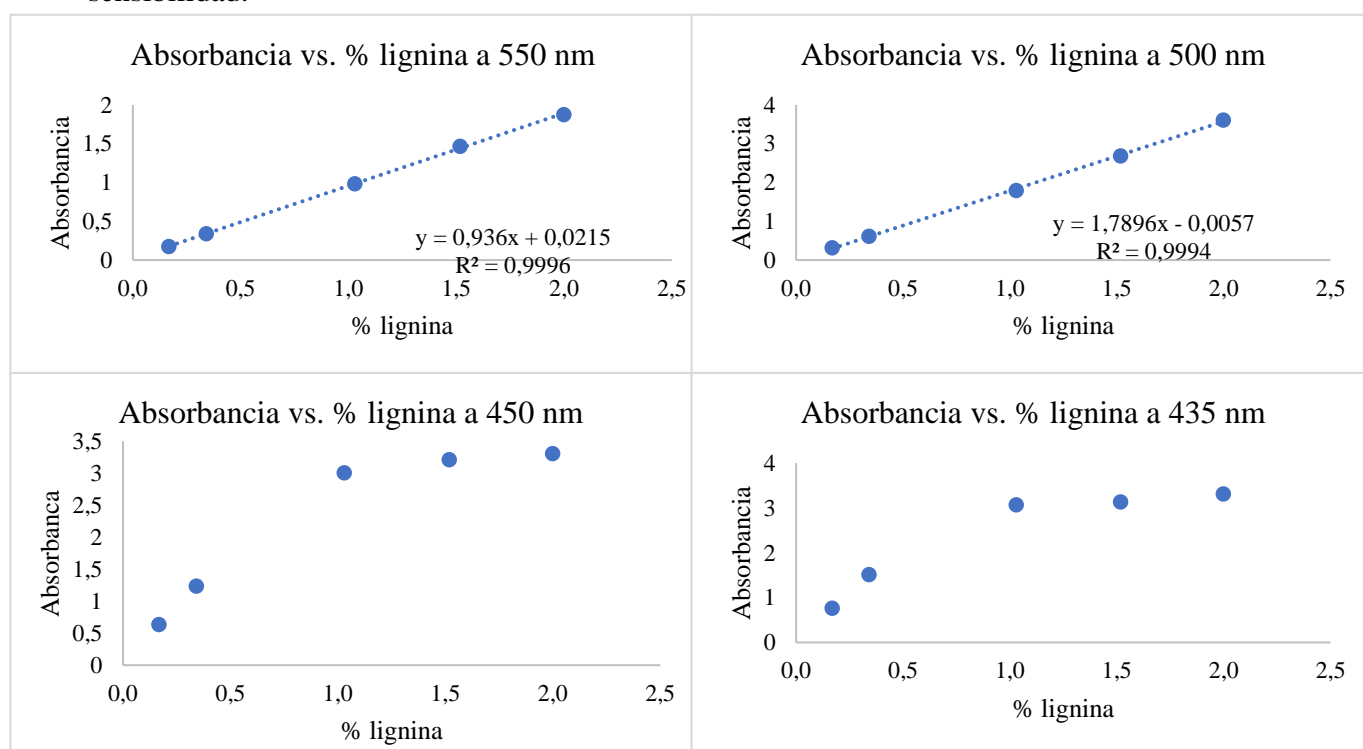


Figura 11: Curvas de calibrado (n=5) del aditivo en AcOIPr para las diferentes longitudes de onda seleccionadas

En las curvas de calibrado la única gráfica útil es la de 550 nm. Para evaluar la recta obtenida a 500 nm, se debe rechazar el último punto, ya que da un valor de absorbancia muy alto, y aplicar el test F. Dicha prueba se aplica a cada punto que se considera sospechoso de que no cumpla con la ecuación de la recta y provoque una disminución del

coeficiente de correlación. Todo eso aparece explicado en el Anexo IV.1. Para las curvas de calibrado a 450 y 435 nm no es posible obtener información útil, ya que además de desviarse de la linealidad se observan unas absorbancias muy superiores para las 3 últimas muestras.³⁰

- Medidas de absorbancia del biodiésel aditivado al 1%

Para el aditivo soluble en biodiésel, también se mide la absorbancia a las longitudes de onda seleccionadas en el caso anterior, empleando como blanco biodiésel. Se mide la absorbancia de los diferentes viales de la misma muestra y se mira si la absorbancia es reproducible de muestra a muestra. En el Anexo IV.2 se encuentran los valores obtenidos de esta medición para las muestras BLS17-BP, BLS17-BP3 y BLS17-BP4. Se observó una desviación estándar relativa (RSD) para las longitudes de onda más altas (550, 500 nm) del 5%. Sin embargo, para longitudes de onda más cortas (450, 435 nm) fue imposible obtener resultados válidos debido a los elevados valores de absorbancia.³⁰

5.1.3. Espectroscopía IR

La bibliografía consultada asocia el rango $3400\text{-}3430\text{ cm}^{-1}$ al enlace O-H de los grupos alcohol o fenol, mientras que el rango entre $2970\text{-}2720\text{ cm}^{-1}$ corresponde al estiramiento C-H en alcanos y alquenos. Las bandas entre $1576\text{-}1542\text{ cm}^{-1}$ son características de las vibraciones de los anillos aromáticos mientras que los anillos fenólicos y O-H son responsables de las bandas entre $1413\text{-}1337\text{ cm}^{-1}$.²⁶ Las bandas a $923\text{-}616\text{ cm}^{-1}$ se atribuyen a los enlaces C-H fuera del plano.^{31, 32,33}

Se intentó determinar la presencia de los compuestos característicos de la lignina en biodiésel mediante la utilización de las técnicas FTIR y empleando el accesorio ATR. Para ello se procedió a realizar pastillas de los sólidos procedentes de los filtros de las medidas de solubilidad con KBr, pero no fue posible en todos los casos, ya que la pastilla presentaba dificultades de compactación, con un aspecto no homogéneo. La única que se pudo determinar fue la muestra BLS17-BP4, donde se refleja el espectro de la parte no soluble en biodiésel del aditivo al 1% en peso. (Figura A-9; Anexo IV.3). En este espectro se pueden observar las siguientes señales: 2946, 2917, 2850, 2356, 2339-2327, 1610 y 1536 cm^{-1} . Lo único que puede deducirse de dicho espectro es la presencia de anillos aromáticos, así como enlaces C-H. Fue imposible determinar la presencia de fenoles o alcoholes, ya que no se observó una banda ancha en torno a 3500 cm^{-1} .

Como alternativa a las pastillas de KBr, las muestras se depositaron sobre soportes de ZnSe. Se intentó analizar por FTIR-ATR el biodiésel aditivado al 1% después de eliminar la parte no soluble, pero debido a que el biodiésel absorbe en el IR, únicamente aparecen las señales correspondientes a este compuesto y enmascaran a las del aditivo además de encontrarse en una baja concentración (menos de un 1% en peso). Esto puede verse en la Figura A-15 del Anexo IV.3, en la que se compara el espectro del biodiésel por FTIR-ATR usado a lo largo de este trabajo y el biodiésel aditivado del experimento BLS17-BP4.

Únicamente se obtuvieron por FTIR-ATR los espectros procedentes de la parte soluble del aditivo en biodiésel, así como la parte soluble en AcOIPr. Estos espectros se encuentran en el Anexo IV.3, donde solamente se aprecian las bandas características del biodiésel (3010 , 2920 , 2854 , 1742 , 1460 , 1436 , 1170 - 1240 y 724 cm^{-1}) y del AcOIPr (2987 , 1759 cm^{-1} del enlace C=O, 1467 , 1377 y 1243 cm^{-1} del enlace C-O del acetato)³⁴ ya que ambos compuestos absorben en el IR.

Con la información recogida, la técnica FTIR-ATR, resulta más simple a la hora de analizar muestras que sin el accesorio ATR, dado que no requiere ningún tratamiento y los tiempos de análisis son rápidos, pudiendo analizarse muestras sólidas o líquidas. En este caso resultó más sencillo el análisis de muestras sólidas empleando el accesorio ATR sin necesidad de realizar pastillas en KBr o depositarlas sobre ZnSe, pero en el caso de las muestras líquidas, más concretamente de la parte soluble tanto en AcOIPr o biodiésel no resultó una buena opción dado que aparecen las señales de estos compuestos y enmascaran las del aditivo. Por tanto, resultaría conveniente emplear análisis de estas muestras por FTIR empleando pastillas de ZnSe y evaporando los disolventes, pero este procedimiento no parece tener los resultados esperados, dado que no se garantiza la evaporación completa del disolvente y aparecen señales en el espectro correspondientes al disolvente.

Teniendo en cuenta las limitaciones mencionadas es necesario la búsqueda de alternativas de análisis de dichas muestras, que pueden ser futuros trabajos que podrán realizarse en complementación a este trabajo. Dichas alternativas se encuentran explicadas en el Apartado 7.

6. Conclusiones

En el presente TFM se ha estudiado la obtención de aditivos para el biodiésel, a partir de la lejía negra para mejorar la estabilidad a la oxidación del biodiésel, sometiendo la lejía negra a un proceso hidrotermal a 300 °C, durante una hora, en una atmósfera inerte con el fin de obtener la lignina despolimerizada, a partir de la cual se obtienen los aditivos. Estos se obtuvieron de la parte orgánica del líquido extraído, una vez eliminado el sólido por extracción Soxhlet y posterior extracción líquido-líquido.

A continuación, se resumen las conclusiones obtenidas por los diferentes métodos de análisis llevados a cabo para la caracterización del aditivo sintetizado para el biodiésel:

- El aditivo empleado al 1% en biodiésel resultó tener una solubilidad de los compuestos del 77%
- El análisis por FTIR-ATR demostró ser un análisis más sencillo y rápido, con una preparación de las muestras mínima, dando unos mejores resultados para las muestras sólidas
- El análisis por FTIR en pastillas de KBr no es adecuado para el tipo de muestra empleado, usándose soportes de ZnSe en su lugar
- No fue posible obtener información estructural de los espectros IR de la lignina despolimerizada

7. Trabajos futuros

Como complemento a este trabajo y para verificar el poder antioxidante de los aditivos producidos a partir de la lejía negra se debe de hacer las medidas de la estabilidad a la oxidación de las muestras empleadas en esta memoria. Para ello se emplea el equipo que aparece detallado en el Anexo V.1.

De cara a ampliar la investigación realizada, sería interesante proponer otras técnicas alternativas de análisis, dado que el resultado obtenido a lo largo del presente trabajo no ha sido el esperado.

Como en la parte experimental del presente trabajo no se obtuvo ninguna información estructural con las técnicas empleadas en la mezcla, se podría analizar el aditivo por HPLC³⁵ preparativo o cromatografía flash empleando diferentes disolventes, de más apolar, como por ejemplo hexano, a más polar como el MeOH. En el Anexo V.2. se

explica en qué consisten ambas técnicas y las diferencias existentes entre ambas. De esta manera se observarían varias zonas de picos en el cromatograma obtenido y se podrían separar distintas fracciones de la lignina. Cada fracción se tratará de manera independiente y se añadirá en 1% en peso al biodiésel siguiendo los mismos pasos que se describen en el presente trabajo. Además, cada fracción sin aditivar será analizada por FTIR³⁶ y por GPC³⁷ para poder obtener alguna información adicional y se medirá la estabilidad a la oxidación del biodiésel aditivado con cada fracción para ver cuál de ellos ofrece unos resultados más favorables. Los compuestos más ligeros, que están fuera del rango útil de la columna, se pueden analizar con la técnica cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS). Por otro lado, al igual que sucedió en el desarrollo de este trabajo, si se midiese la muestra aditivada al 1% en biodiésel por FTIR, debido a la baja concentración y que el biodiésel absorbe en el IR, no será posible observar las señales de los compuestos que confieren las propiedades antioxidantes. De esto modo, únicamente se puede estudiar el aditivo antes de adicionarlo al biodiésel.

Una propuesta para el análisis por GPC es emplear patrones en los que se conozcan los pesos moleculares. En el anexo V.3. aparece el espectro obtenido al pinchar los patrones en la columna que se han obtenido del trabajo experimental del presente TFM, cuyo trabajo no se ha podido finalizar. Además, se emplea una fase móvil que tenga las características adecuadas para poder desprotonar los compuestos fenólicos: 10^{-3} M NaOH, 0,1 % en peso LiBr y 0,05% en peso NaN_3 .³⁸ Previamente la fase móvil se debe desgasificar con He. Se colocarán 2 columnas seguidas en paralelo y una precolumna como medio de protección de ambas a una temperatura de 40 °C.

8. Referencias bibliográficas

1. Pérez Pariente, J. *Biocombustibles : sus implicaciones energéticas, ambientales y sociales*. (2017).
2. Los biocombustibles (2a. ed.).pdf | Fotovoltaica | Unión Europea. <https://es.scribd.com/document/343216710/Los-biocombustibles-2a-ed-pdf>.
3. Europea, E. parlamento E. y el C. de la U. *Directiva (UE) 2015/1513 del Parlamento Europeo y del Consejo de 9 de septiembre de 2015 por la que se modifican la Directiva 98/70/CE, relativa a la calidad de la gasolina y el gasóleo y la Directiva 2009/28/CE, relativa al fomento del uso de energía pro.* 58–67 (2015).
4. Harahap, A. F. P. & Gozan, M. Utilization of lignin as natural antioxidant for biodiesel. *AIP Conf. Proc.* **2024**, (2018).
5. UFOP. *Biodiesel 2018/2019. Report on Progress and Future Prospects.* www.ufop.de (2019).
6. Cardéño, F., Gallego, L. J. & Rios, L. A. Refinación de la fase glicerina del biodiésel de aceite de palma empleando ácidos minerales. *Inf. Tecnol.* **22**, 15–24 (2011).
7. Tacias-Pascacio, V. G. *et al.* Comparison of acid, basic and enzymatic catalysis on the production of biodiesel after RSM optimization. *Renew. Energy* **135**, 1–9 (2019).
8. Jayaraman, J. *et al.* Enzymatic production of biodiesel using lipase catalyst and testing of an unmodified compression ignition engine using its blends with diesel. *Renew. Energy* **145**, 399–407 (2020).
9. Galan, M. I., Bonet, J., Sire, R., Reneaume, J. M. & Pleşu, A. E. From residual to useful oil: Revalorization of glycerine from the biodiesel synthesis. *Bioresour. Technol.* **100**, 3775–3778 (2009).
10. Stepan, E. *et al.* A versatile method for obtaining new oxygenated fuel components from biomass. *Ind. Crops Prod.* **113**, 288–297 (2018).
11. Dueso, C. *et al.* Performance and emissions of a diesel engine using sunflower biodiesel with a renewable antioxidant additive from bio-oil. *Fuel* **234**, 276–285 (2018).
12. Yaakob, Z., Narayanan, B. N., Padikkaparambil, S., Unni K., S. & Akbar P., M. A review on the oxidation stability of biodiesel. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **35**, 136–153 (2014).
13. Saluja, R. K., Kumar, V. & Sham, R. Stability of biodiesel – A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **62**, 866–881 (2016).
14. Sia, C. B., Kansedo, J., Tan, Y. H. & Lee, K. T. Evaluation on biodiesel cold flow properties, oxidative stability and enhancement strategies: A review. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* **24**, (2020).
15. Rizwanul Fattah, I. M. *et al.* Effect of antioxidants on oxidation stability of biodiesel derived from vegetable and animal based feedstocks. *Renew. Sustain.*

- Energy Rev.* **30**, 356–370 (2014).
16. Jain, S. & Sharma, M. P. Stability of biodiesel and its blends: A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **14**, 667–678 (2010).
 17. Ramezani, N. & Sain, M. Non-catalytic green solvent lignin isolation process from wheat straw and the structural analysis. *Renew. Energy* **140**, 292–303 (2019).
 18. Sifontes, C. & Domine, M. E. Lignina, estructura y aplicaciones: métodos de despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial. *Av. en Ciencias e Ingeniería* **4**, 15–46 (2013).
 19. Chio, C., Sain, M. & Qin, W. Lignin utilization: A review of lignin depolymerization from various aspects. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **107**, 232–249 (2019).
 20. Lavoie, J. M. *et al.* Renewable antioxidant additive for biodiesel obtained from black liquor. *Fuel* **254**, (2019).
 21. Zevallos Torres, L. A. *et al.* Lignin as a potential source of high-added value compounds: A review. *J. Clean. Prod.* 121499 (2020) doi:10.1016/j.jclepro.2020.121499.
 22. Zevallos Torres, L. A. *et al.* Lignin as a potential source of high-added value compounds: A review. *J. Clean. Prod.* **263**, (2020).
 23. Zheng, A. *et al.* Impact of Torrefaction on the Chemical Structure and Catalytic Fast Pyrolysis Behavior of Hemicellulose, Lignin, and Cellulose. *Energy and Fuels* **29**, 8027–8034 (2015).
 24. Duval, A. & Lawoko, M. A review on lignin-based polymeric, micro- and nano-structured materials. *React. Funct. Polym.* **85**, 78–96 (2014).
 25. Balakshin, M. & Capanema, E. On the quantification of lignin hydroxyl groups with ³¹P and ¹³C NMR spectroscopy. *J. Wood Chem. Technol.* **35**, 220–237 (2015).
 26. Palomo, J. *et al.* Production of antioxidants for biodiesel from straw black liquor depolymerization. (2019) doi:10.2495/ESUS190091.
 27. Martínez Tauler, M. del C. Obtención de aditivos antioxidantes para biodiésel a partir de lignina mediante su procesado a alta presión y temperatura en presencia de disolventes. (2016).
 28. Zhou, J., Xiong, Y., Gong, Y. & Liu, X. Analysis of the oxidative degradation of biodiesel blends using FTIR, UV–Vis, TGA and TD-DES methods. *Fuel* **202**, 23–28 (2017).
 29. Zhou, J., Xiong, Y., Gong, Y. & Liu, X. Analysis of the oxidative degradation of biodiesel blends using FTIR, UV–Vis, TGA and TD-DES methods. *Fuel* **202**, 23–28 (2017).
 30. Ocio, J. Z. Aplicación de la Quimiometría para el aprovechamiento analítico de reactivos generales. Revisión de la incertidumbre instrumental y del Límite de Detección multivariable. *Tesis la Univ. del País Vasco/Euskal Erriko Unibertsitatea* 55 (2010).

31. El Mansouri, N. E. & Salvadó, J. Analytical methods for determining functional groups in various technical lignins. *Ind. Crops Prod.* **26**, 116–124 (2007).
32. Dubé, M. A., Zheng, S., McLean, D. D. & Kates, M. A comparison of attenuated total reflectance-FTIR spectroscopy and GPC for monitoring biodiesel production. *JAOCs, J. Am. Oil Chem. Soc.* **81**, 599–603 (2004).
33. Florentino-Madiedo (2018)-Importance of biomass and binder selection for coking briquette preparation. Their effect on coal thermoplastic properties.pdf.
34. Primo Yúfera, E. *Química orgánica básica y aplicada: de la molécula a la industria. Volumen 2.*
35. Waggoner, D. C. & Hatcher, P. G. Hydroxyl radical alteration of HPLC fractionated lignin: Formation of new compounds from terrestrial organic matter. *Org. Geochem.* **113**, 315–325 (2017).
36. A Method for Determining Oxidation Stability of Petrodiesel, Biodiesel, and Blended Fuels | American Laboratory. <https://www.americanlaboratory.com/914-Application-Notes/34716-A-Method-for-Determining-Oxidation-Stability-of-Petrodiesel-Biodiesel-and-Blended-Fuels/>.
37. Peng, J., Lu, F. & Ralph, J. The DFRC Method for Lignin Analysis. 4. Lignin Dimers Isolated from DFRC-Degraded Loblolly Pine Wood. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 553–560 (1998).
38. Palomo, J. *et al.* Production of antioxidants for biodiesel from straw black liquor depolymerization. *WIT Trans. Ecol. Environ.* **237**, 97–108 (2019).
39. Sarmiento Torres, R. Propiedades físicas y químicas del biodiesel vs diesel del petróleo. <https://www.energiaadebate.com/blog/2072/> (2008).
40. Mishra, V. K. & Goswami, R. A review of production, properties and advantages of biodiesel. *Biofuels* **9**, 273–289 (2018).
41. Knothe, G. Biodiesel fuel quality and the ASTM standard. *Palmas* **31**, 162–171 (2010).
42. Moreira-Vilar, F. C. *et al.* The acetyl bromide method is faster, simpler and presents best recovery of lignin in different herbaceous tissues than klason and thioglycolic acid methods. *PLoS One* **9**, (2014).
43. García, M. *et al.* Antioxidants for biodiesel: Additives prepared from extracted fractions of bio-oil. *Fuel Process. Technol.* **156**, 407–414 (2017).